

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.  
Vol. 14, 1976, pp. 137–144

## Die Plasmapherese als Modell zum Studium der Verteilung von Enzymen

### Verteilung und Transport von Zellenzymen im extrazellulären Raum, IV. Mitteilung

Von R. Friedel<sup>1</sup>), R. Bode und I. Trautschold

*Institut für Klinische Biochemie der Medizinischen Hochschule Hannover*

(Eingegangen am 9. April/17. Dezember 1975)

**Zusammenfassung:** Die Geschwindigkeit der Verteilung von Zellenzymen zwischen Interstitium und Intravasalraum wurde nach einer plötzlichen Senkung von Enzymaktivitäten im Plasma untersucht. Ein solcher Aktivitätsabfall, der eine Neueinstellung des Fließgleichgewichtes zwischen beiden Verteilungsräumen zur Folge hat, konnte bei Ratten durch einen raschen Austausch des Blutes mit dem zweifachen Volumen einer Suspension homologer Erythrocyten in isoosmolarer Rinderserumalbumin-Lösung erreicht werden. Nach dem Blutaustausch waren die Aktivitäten von sieben Zellenzymen im Plasma auf Werte von 14 bis 22% der ursprünglichen Werte abgesunken. Die darauf einsetzende Zunahme der Aktivitäten erfolgte für die einzelnen Enzyme mit unterschiedlicher Kinetik. Die Creatinkinase hatte bereits nach 120 min die Ausgangsaktivität wieder erreicht; bei der Malatdehydrogenase und der Aldolase wurden nach 180 min Aktivitäten wie vor dem Austausch bestimmt. Langsamer stiegen die Aktivitäten der Aspartataminotransferase, Glutamatdehydrogenase, Alaninaminotransferase und Pyruvatkinase an, die sämtlich nach 240 min den Ausgangswert noch nicht wieder erreicht hatten. Wird der Blutaustausch nach 90 min wiederholt, erfolgt die zweite Gleichgewichtseinstellung in der Anfangsphase mit identischer Kinetik wie die erste.

In den ersten Minuten nach dem Blutaustausch ist die Neueinstellung des Aktivitätsgleichgewichtes zwischen Interstitium und Intravasalraum vornehmlich durch den Einstrom von Enzymaktivität über die Kapillarwand bedingt. Aus der Kinetik der Aktivitätsanstiege können deshalb die Halbwertszeiten für die Verteilung von Zellenzymen berechnet werden. Für Malatdehydrogenase und Aldolase stimmen diese Halbwertszeiten mit denen überein, die nach intravenöser Injektion ermittelt wurden. Bei den restlichen Enzymen ergeben sich Abweichungen. Für Pyruvatkinase und Glutamatdehydrogenase sind sie signifikant kleiner, für Aspartataminotransferase, Alaninaminotransferase und Creatinkinase signifikant größer als nach intravenöser Injektion. Es wird diskutiert, worauf diese Unterschiede beruhen könnten.

*Plasmapheresis as an experimental model for studies on the extracellular distribution of enzymes. Distribution and transport of cell enzymes within the extracellular space, IV*

**Summary:** The rate of distribution of cell enzymes between the intravascular and extravascular space was studied, following a sudden decrease of enzyme activities in the plasma. This rapid decrease of enzyme activities was achieved in rats by a rapid exchange of the blood with a twofold volume of a suspension of homologous erythrocytes in isoosmolar bovine serum albumin solution. After this plasmapheresis, the activities of seven cell enzymes in the plasma were decreased to 14 to 22% of their original values. The subsequent increase in activities showed different kinetics, depending on the enzyme. After 120 min, creatine kinase had reached the starting activity; malate dehydrogenase and aldolase reached their original activities after 180 min. Aspartate aminotransferase, glutamate dehydrogenase, alanine aminotransferase and pyruvate kinase increased more slowly and they had still not reached their starting values after 240 min. Repetition of the plasmapheresis after 90 min had no obvious effect on the kinetics of the subsequent activity increase.

During the first minutes after plasmapheresis the adjustment of the activity equilibrium between the interstitial and the intravascular compartments depends mainly on the capillary permeability. It is therefore possible to determine half-life constants for the distribution of enzymes within the extracellular space. The constants for malate dehydrogenase and aldolase are almost identical with those determined by intravenous injection, whereas there are discrepancies in the constants for the remaining enzymes. The constants for pyruvate kinase and glutamate dehydrogenase are significantly lower, while those for aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and creatine kinase are significantly higher, than those determined after intravenous injection. Possible reasons for these differences are discussed.

<sup>1</sup>) Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

### Einleitung und Fragestellung

Die Höhe von Enzymaktivitäten im Blutplasma wird durch ein System von Fließgleichgewichten zwischen dem intrazellulären, interstitiellen und intravasalen Raum reguliert. Wie in der Abbildung 1 schematisch dargestellt, kann die Einstellung einer Plasma-Aktivität von bis zu acht Konstanten abhängen, wobei einige von ihnen wiederum die Resultierende mehrerer Konstanten darstellen. Da wir in der Regel nur Zugang zum intravasalen Raum haben, scheint es fast aussichtslos, die Größe einzelner Konstanten oder auch nur Gruppen von Konstanten für Prozesse mit gleichsinnig gerichteter Wirkung zu bestimmen. Für diagnostische Belange wird allgemein der Bestimmung von Eliminationskonstanten ( $k_3$ ,  $k_4$  und  $k_5$  des Schemas) die größte Bedeutung beigemessen (siehe hierzu l.c. (1–3)). Ziel derartiger tierexperimenteller wie auch klinischer Untersuchungen ist vornehmlich die Bestimmung der Eliminationsraten von Zellenzymen, die aufgrund eines pathologischen Ereignisses vom intrazellulären Raum in das Blutplasma gelangten, um dann bei Kenntnis von Halbwertszeit, aktueller Höhe der Aktivität im Plasma und Zeitpunkt der akuten Gewebsschädigung bzw. des Enzymaustritts auf die Menge des ausgetretenen Enzyms und damit auf das Ausmaß der Zellschädigung schließen zu können.

Falls Enzyme aus der Zelle direkt in das Plasma übertreten ( $k_8$  des Schemas), ist ein solches Vorgehen erfolgversprechend; die Abnahme der Aktivität im Plasma wäre in diesem Falle lediglich bestimmt durch die Verteilung ( $k_1$  des Schemas) und durch die endgültige Elimination ( $k_3$ ,  $k_4$  und  $k_5$ ). Da der Rückstrom von Enzymaktivitäten aus dem Interstitium mit der Lymphe ( $k_6$  des Schemas), der im Gegensatz zum Einstrom von Enzymaktivität in den Intravasalraum über die Kapillarmembran ( $k_2$  des Schemas) auch gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgt, bei konstantem Lymphfluß abhängig ist von  $k_1$  und  $k_5$ , kann aus der Geschwindigkeit der Aktivitätsabnahme im Plasma relativ einfach  $k_1$  bestimmt werden. Ist  $k_5$  kleiner als  $k_1$ , kann auch  $k_5$  ermittelt werden. Auf dieser Basis erfolgt die Bestimmung von Eliminationsraten entweder tierexperimentell nach intravenöser Injektion von Enzymen oder in der Klinik über Verlaufsbeobachtungen nach einer akuten Gewebsschädigung. In der vorausgegangenen Mitteilung (4) wurde ausführlich diskutiert, welche Grenzen besonders den tierexperimentellen Untersuchungen gesetzt sind. Erfolgt hingegen der Enzymaustritt zunächst in das Interstitium ( $k_7$  des Schemas) oder treten Zellenzyme gleichzeitig sowohl in das Interstitium als auch in den Plasma-raum über, ist eine Analyse der auf den Austritt folgenden Vorgänge erheblich komplizierter. In diesem Falle wird die Menge der in den Plasmaraum gelangenden Enzymaktivität von der experimentell nicht erfassbaren Aktivität im Interstitium abhängen, die wiederum eine Funktion von  $k_2$ ,  $k_5$  und  $k_6$  ist. Daß Zellenzyme unter physiologischen Bedingungen primär vornehmlich in das Inter-

stitium übertreten und erst von dort — abhängig von ihrem Molekulargewicht — mit der Lymphe und/oder über die Kapillarmembran in den intravasalen Raum gelangen, ergibt sich aus der Analyse von tierexperimentell ermittelten Aktivitätsquotienten Plasma/Lymphe (5). Auch unter pathologischen Bedingungen wird sowohl der Transportweg mit der Lymphe als auch der Weg der Permeation durch die Kapillarmembran besprochen (6–13). Ob und unter welchen Bedingungen Zellenzyme direkt unter Umgehung des Interstitiums in das Plasma gelangen können, ist nicht bekannt; abgesehen von einem Enzymaustritt aus zirkulierenden Blutzellen dürfte diese Möglichkeit unter pathologischen Bedingungen eine nur untergeordnete Rolle spielen. Es ist also in jedem Falle anzunehmen, daß zwischen dem Austritt von Zellenzymen (charakterisiert durch  $k_7$ ) und der Nachweisbarkeit von Aktivität im Plasma Vorgänge der Verteilung ( $k_2$ ) und des Transportes mit der Lymphe ( $k_6$ ) liegen.

Da die Verteilung von Enzymen innerhalb des extrazellulären Raumes als passiver Prozeß anzusehen ist, kann sie unter der Voraussetzung, daß eine direkte Elimination aus dem Plasma ( $k_4$ ) nicht stattfindet und daß weder Blutzellen Enzyme aufnehmen ( $k_3$ ) noch eine nennenswerte intravasale Inaktivierung stattfindet, experimentell durch akute Erhöhung der Aktivität im Plasma untersucht werden. In der vorangegangenen Mitteilung (4) haben wir über Ergebnisse von derartigen Versuchen berichtet und auch diskutiert, welchen Einfluß die Verteilungs- und Transportvorgänge auf Plasma-Spiegel von Enzymaktivitäten und auf deren Verlaufskurven nehmen können. Wir hatten den Versuchsansatz der intravenösen Injektion gewählt, da es nicht möglich sein dürfte, unter kontrollierten Bedingungen die Aktivität im Interstitium zu erhöhen, was pathophysiologischen Bedingungen entsprechen würde.

Ausgangspunkt der Untersuchungen, über die hier berichtet werden soll, war die Überlegung, daß die Verteilung und der Transport von Zellenzymen im extrazellulären Raum besser noch dann studiert werden könnte, wenn es gelingt, unter nahezu physiologischen Bedingungen ein Aktivitätsgefälle vom Interstitium in Richtung auf den Intravasalraum zu errichten und damit eine Neueinstellung des Verteilungsgleichgewichts zwischen beiden Räumen zu provozieren. Im Gegensatz zu der Möglichkeit der experimentellen Zellschädigung würde eine plötzliche Senkung der Enzymaktivitäten im Plasma ein gut überschaubares Modell zum Studium der Verteilungs- und Transportvorgänge im extrazellulären Raum bieten. Als Weg für eine akute Aktivitäts-Senkung im Plasma wurde die Plasmapherese bzw. eine massive Austauschtransfusion gewählt. Es sollte untersucht werden, nach welchen Gesetzmäßigkeiten sich ein Aktivitätsgleichgewicht zwischen Interstitium und Intravasalraum neu einstellt, ob es möglich ist, auf diesem Wege und unter angenähert physiologischen Bedingungen die Verteilungskonstante  $k_2$  (Abb. 1) zu ermitteln und wie etwa hierfür gewonnene Werte mit

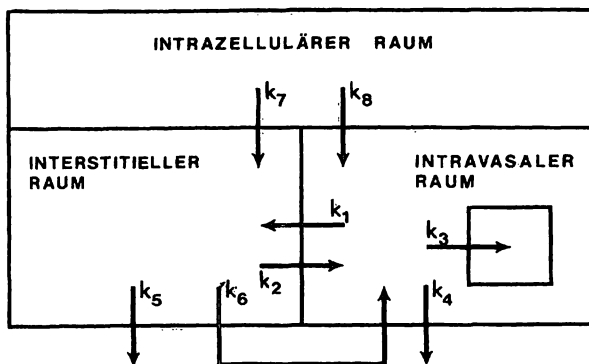


Abb. 1. Schematische Darstellung der Prozesse, die an der Einstellung der Enzymaktivitäten im Blutplasma beteiligt sind.  
Erklärung im Text.

den nach intravenöser Injektion ermittelten Verteilungskonstanten  $k_1$  korrelieren. Außerdem sollte untersucht werden, ob es möglich ist, durch zweimaligen Blutaustausch das Reservoir von Enzymaktivitäten im Interstitium zu erschöpfen, was an einer veränderten Kinetik der erneuten Gleichgewichtseinstellung erkennbar sein müßte.

## Methodik

### Tierversuche

Alle Untersuchungen wurden an männlichen Ratten des Stammes HAN:WISTAR mit einem Gewicht zwischen 200 und 250 g durchgeführt. Die Tiere wurden konventionell gehalten (Raumtemperatur  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , relative Luftfeuchtigkeit  $50 \pm 5\%$ , Licht von 07.00 bis 19.00 Uhr). Bis zu Versuchsbeginn hatten sie Altromin R 1320 und Trinkwasser ad libitum erhalten.

In Pentobarbital-Narkose wurden die rechte A. carotis und die rechte V. jugularis kanuliert. 30 min später wurden innerhalb von 4–6 min arteriell 30–35 ml Blut entnommen und synchron intravenös mit der gleichen Menge einer frisch hergestellten Suspension homologer Erythrocyten in Krebs-Ringer-Hydrogencarbonat-Puffer, Rinderserum-Albumin-Gehalt 70 g/l, ersetzt. In Vorversuchen, in denen der Blutdruck kontinuierlich über einen in einer A. femoralis liegenden Katheter und ein Statham-Element gemessen worden war, war geprüft, daß sich weder während der Austauschtransfusion noch danach Blutdruck oder Herzfrequenz wesentlich änderten. Bei der Kontroll-Gruppe wurde eine gleich große Menge Blut mit homologem Blut ausgetauscht. Bei einer zweiten Versuchsgruppe wurde der Austausch nach 90 min wiederholt; die Kontrollversuche hierzu erfolgten analog ebenfalls mit homologem Blut.

Über den in der A. carotis liegenden Katheter wurden Blutproben (jeweils etwa 200  $\mu\text{l}$ ) zu folgenden Zeiten entnommen: 30 min und unmittelbar vor dem Blutaustausch, sofort und 10, 30, 60, 90, 120, 180 und 240 min danach. Bei der Gruppe mit zweimaligem Blutaustausch sofort, 10, 30, 60 und 90 min nach dem ersten Austausch, nach dem zweiten Austausch bis 240 min in der gleichen Reihenfolge wie oben.

### Meßmethoden

Im Plasma wurden die Aktivitäten folgender Enzyme bestimmt:

Malatdehydrogenase (EC 1.1.1.37),  
Glutamatdehydrogenase (EC 1.4.1.3),  
Aspartataminotransferase (EC 2.6.1.1),  
Alaninaminotransferase (EC 2.6.1.2),  
Pyruvatkinase (EC 2.7.1.40),  
Creatinkinase (EC 2.7.3.2),  
Aldolase (EC 4.1.2.13).

Einzelheiten zur Aufarbeitung des Blutes und zur Meßmethodik sind den vorangegangenen Mitteilungen zu entnehmen (4, 5).

## Ergebnisse

### Einfacher Blutaustausch

Die gemittelten Ergebnisse aus der Kontroll- und der Versuchsgruppe sind in den Abbildungen 2 bzw. 3 dargestellt. Die Ergebnisse der Kontrollversuche sind in absoluten Aktivitäten mit Streuung ( $s_x$ ) angegeben, bei der Versuchsgruppe wurden die Ergebnisse auf den Meßwert unmittelbar vor dem Austausch (= 100%) bezogen. Auf die Einzeichnung der Streuungen wurde der Übersichtlichkeit wegen verzichtet, hierzu sei auf die Abbildung 6 im Diskussionsteil verwiesen.

Bei den Kontrollen zeigten die Aktivitäten von Glutamatdehydrogenase, Aspartataminotransferase, Alaninaminotransferase, Aldolase und Creatinkinase über den gesamten Versuchszeitraum nur geringe Schwankungen. Es wurde eine leichte, statistisch nicht signifikante Tendenz zur Aktivitäts-Abnahme beobachtet. Die Malatdehydrogenase-Aktivitäten wiesen stärkere Schwankungen auf, allerdings ohne einen Trend in Richtung Zu- oder Abnahme. Für die Pyruvatkinase liegen keine Kontrollversuche vor. Bei der Versuchsgruppe wurden unmittelbar nach dem Blutaustausch Enzymaktivitäten im Plasma bestimmt, die im Mittel nur noch zwischen 14% (Malatdehydrogenase) und 22% (Creatinkinase und Aldolase) der Ausgangswerte betrugen. Die Creatinkinase-Werte

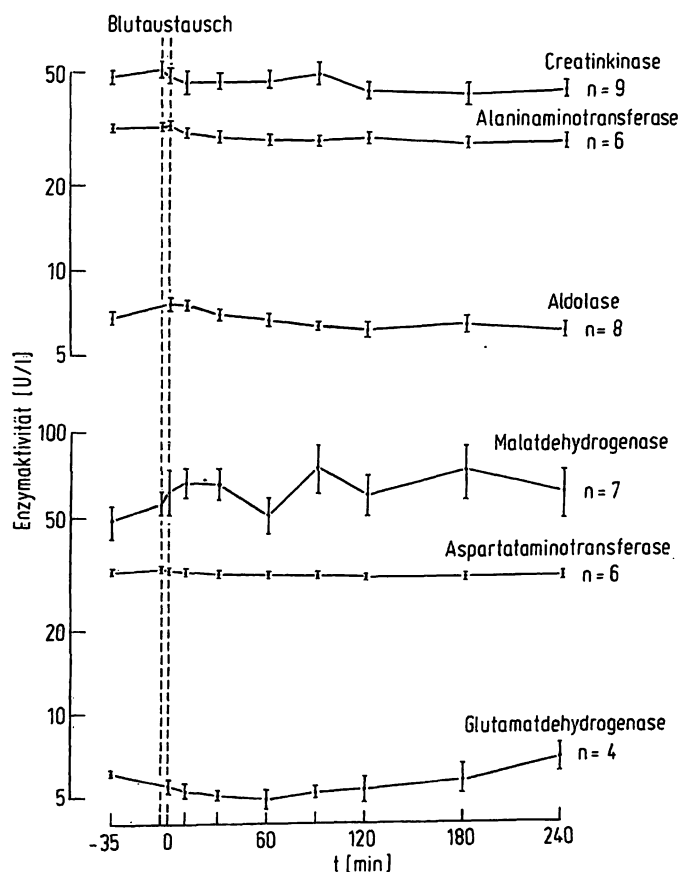


Abb. 2. Plasmapherese, einmaliger Blutaustausch (Kontrollen). Enzymaktivitäten in U/l ( $\bar{x} \pm s_x$ ), logarithmischer Maßstab der Ordinaten.

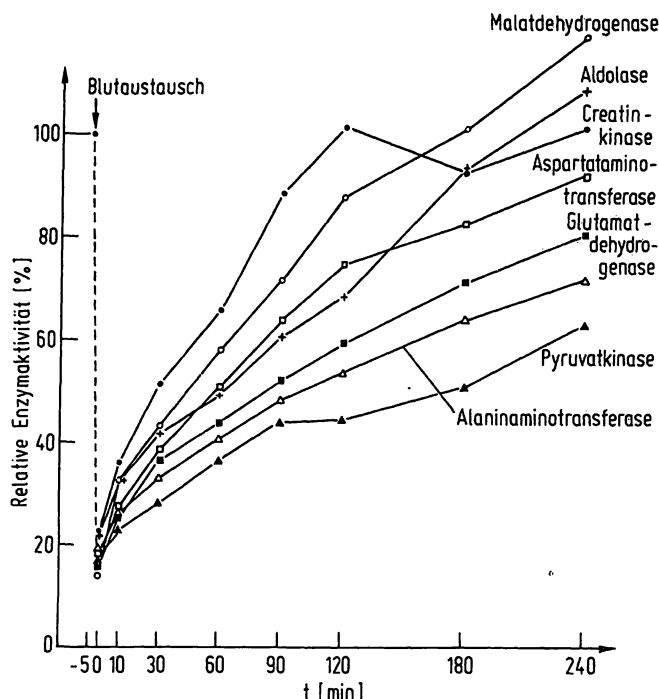


Abb. 3. Plasmapherese, einmaliger Blutaustausch.  
Enzymaktivitäten in % des Wertes vor dem Austausch.

erreichten bereits nach 120 min wieder die Ausgangsaktivitäten und schwankten dann um diese Werte. Malatdehydrogenase und Aldolase hatten sich nach 180 min dem 100%-Wert genähert und lagen am Ende des Versuches mit im Mittel 119% und 108% leicht darüber. Demgegenüber zeigten Aspartataminotransferase und Pyruvatkinase deutlich langsamere Aktivitäts-Anstiege. Bei der Pyruvatkinase z. B. wurden 240 min nach dem Austausch im Mittel erst 62% der Ausgangsaktivität erreicht.

### Doppelter Blutaustausch

Diese Versuche (Abb. 4 und 5) wurden nur für Glutamatdehydrogenase, Aspartataminotransferase, Alaninaminotransferase und Creatinkinase durchgeführt. Nach dem ersten Austausch zeigten sowohl die Kontrollen wie auch die Versuchsgruppe gleiche Ergebnisse wie beim einfachen Austausch.

Nach dem zweiten Blutaustausch verliefen die Aspartataminotransferase- und die Alaninaminotransferase-Aktivitäten bei den Kontrollen völlig unauffällig. Die Creatinkinase fiel von Ausgangsaktivitäten um 50 U/l auf Werte um 30 U/l ab. Die Glutamatdehydrogenase stieg von im Mittel 5 U/l auf 10 U/l an; die Glutamatdehydrogenase wurde bei nur vier Kontrolltieren untersucht, der Anstieg der Mittelwerte ist – wie die Zunahme der Streuung zeigt – auf die starke Aktivitätszunahme bei einem Tier (bis zu 16 U/l) zurückzuführen.

In der Versuchsgruppe zeigten die Aktivitätszunahmen nach dem zweiten Austausch anfänglich einen ähnlichen Verlauf wie nach dem ersten. Nur bei der Alaninaminotransferase wurden mit 12% gegenüber 17% der Aktivität vor dem Versuch niedrigere Werte erreicht ( $2P < 0,05$ ); bei den übrigen drei Enzymen waren die Aktivitäten unmittelbar nach dem Austausch in beiden Fällen identisch. 180 min nach dem zweiten Austausch hatten sowohl Aspartataminotransferase als auch Creatinkinase mit im Mittel 118% bzw. 133% die Ruhewerte vor Versuchsbeginn überschritten und stiegen auch weiter an auf Mittelwerte von 137% bzw. 186%. Sowohl Glutamatdehydrogenase als auch Alaninaminotransferase hatten 240 min nach dem zweiten Austausch mit Mittelwerten von jeweils 84% die ursprünglichen Aktivitäten im Plasma noch nicht wieder erreicht.

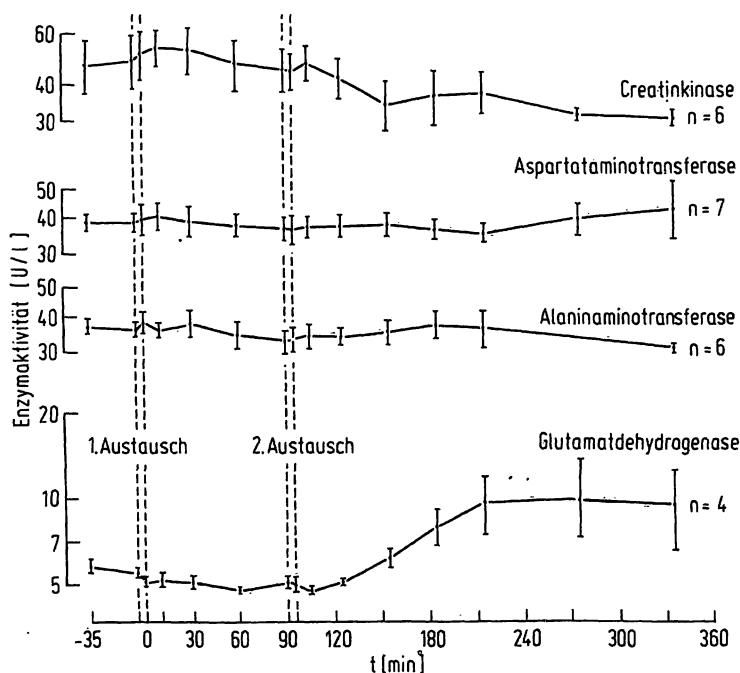


Abb. 4. Plasmapherese, doppelter Blutaustausch bei 0 und 95 min (Kontrollen).  
Enzymaktivitäten in U/l ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ), logarithmischer Maßstab der Ordinaten.

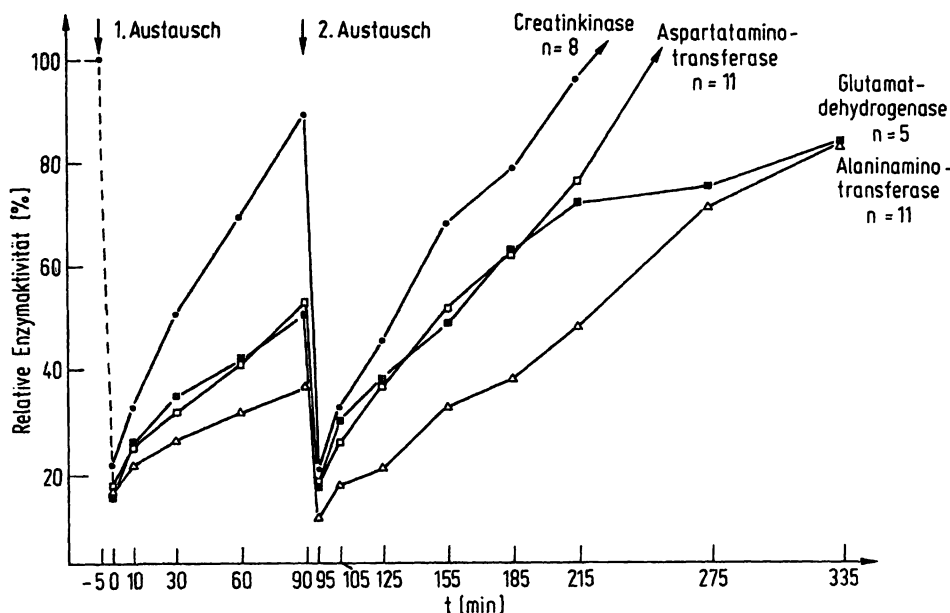


Abb. 5. Plasmapherese, doppelter Blutaustausch bei 0 und 95 min. Enzymaktivitäten in % des Wertes vor dem ersten Austausch.

### Diskussion

Das Plasmapherese-Modell diente bisher in der experimentellen Medizin vornehmlich dem Studium der Regulation von Synthese und Sekretion der Plasmaproteine (Literatur bei l.c. (14)). Ergebnisse und Schlussfolgerungen aus derartigen Studien, in denen also ein Regulationskreis mit echter Sekretion durch Senkung der Konzentration im Erfolgsorgan gestört wird, können auf die hier vorliegenden Untersuchungen nicht übertragen werden, da Zellenzyme passiv in den extrazellulären Raum gelangen und eine Rückkopplung auf Synthese und Austrittsrate durch die Aktivität im Plasma nicht zu erwarten ist. Im Idealfall würden die auf einen Blutaustausch folgenden Veränderungen von Enzymaktivitäten im Plasma ausschließlich physiologische Verteilungs- und Transportvorgänge widerspiegeln, da der normale Zustrom von Enzymaktivität aus dem intrazellulären Raum unbeeinflusst bleiben müßte. Tatsächlich zeigen aber schon die Kontrollversuche — besonders beim zweifachen Austausch — daß bei einigen Enzymen gegen Ende des Versuchs mit unterschwelligen Aktivitätsveränderungen gerechnet werden muß, die bei einer mathematischen Analyse der Ergebnisse berücksichtigt werden müßten. Wir beschränken uns deswegen bei den weiteren Erörterungen auf die kurz nach dem Blutaustausch (bis zu 30 min) beobachteten Effekte.

Unmittelbar nach dem Blutaustausch wird die Neueinstellung des Aktivitätsgleichgewichtes zwischen Interstitium und Intravasalraum lediglich durch  $k_2$ ,  $k_6$  und eventuell  $k_8$  (siehe Abbildung 1) bestimmt.  $k_3$  und  $k_4$  als Konstanten der direkten Elimination aus dem Plasma können — falls sie überhaupt beim extrazellulären Umsatz von Zellenzymen eine Rolle spielen — vernachlässigt werden, da die Aktivität im Intravasalraum akut gesenkt

wurde, was einen exponentiellen Abfall dieser theoretisch möglichen Eliminationsvorgänge zur Folge haben müßte. Die Konstante  $k_2$  für den direkten Austausch über die Kapillarmembran charakterisiert eine Exponentialfunktion:

$$\Delta A_p = A_o \cdot (1 - e^{-k_2 t})$$

Wobei  $\Delta A_p$  für die Aktivitätszunahme im Plasma bis zur Zeit  $t$  und  $A_o$  für die Aktivität im Plasma im Gleichgewichtszustand steht.

Zusätzlich wird Aktivität mit der Lymphe in den Intravasalraum transportiert; dieser Prozeß folgt einer linearen Funktion, ebenso wie ein eventuell stattfindender Übertritt von Enzymaktivität aus zirkulierenden Blutzellen oder gefäßwandständigen Zellen ( $k_8$ ). In der Anfangsphase wird sich die Aktivität im Plasma demnach neu einstellen nach

$$\Delta A_p = A_o \cdot (1 - e^{-k_2 t}) + k_6 \cdot A_I \cdot t + k_8 \cdot A_Z \cdot t$$

$A_I$  = Aktivität im Interstitium,

$A_Z$  = Aktivität in Blut- oder gefäßwandständigen Zellen.

Da die Zunahme der Aktivitäten in der ersten Phase nach dem Austausch einen deutlich exponentiellen Verlauf zeigte, können die linearen Anteile der Gleichung, die auch von der Versuchsanordnung nicht beeinflusst worden waren, gegenüber dem exponentiellen Teil zunächst vernachlässigt werden. Ausgehend von dieser vereinfachenden Annahme wurden mit den in der vorangegangenen Mitteilung (4) berechneten Konstanten für die Verteilung autologer Enzyme die theoretisch zu erwartenden Aktivitätsanstiege berechnet. Der Grenzwert  $A_o$ , die Plasma-Aktivität im Gleichgewichtszustand, wurde = 100% gesetzt. In der Abbildung 6 sind für den einfachen Blutaustausch diese errechneten Verlaufs-

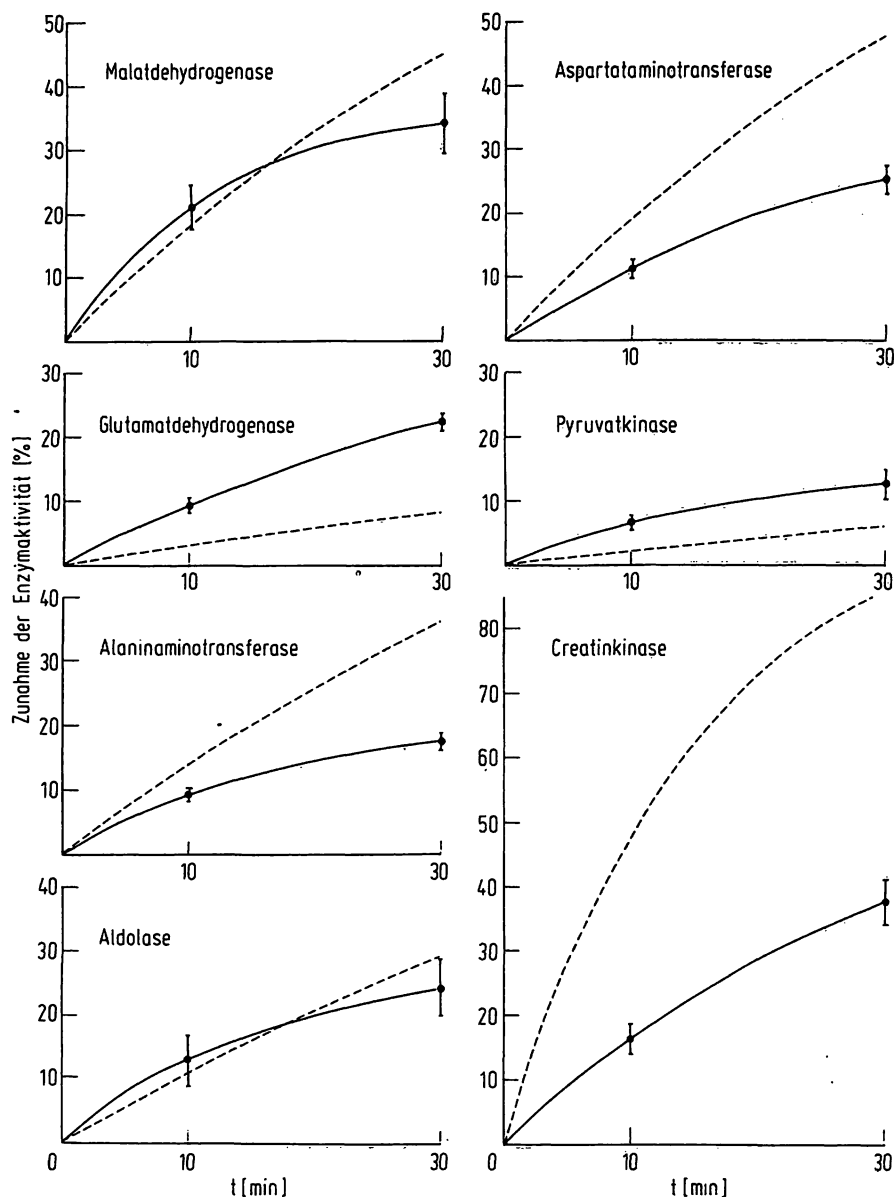


Abb. 6. Zunahme von Enzymaktivitäten im Intravasalraum nach Plasmapherese (durchgezogene Linie,  $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ , n wie in Abb. 3) im Vergleich zur „erwarteten“ Kinetik. Erklärung im Text.

kurven der ersten 30 min mit den tatsächlich gemessenen Werten verglichen. Da bei den Meßwerten  $\Delta A_p$  von der Restaktivität im Plasma nach dem Austausch abhängt, wurde es zur Normierung für jeden Einzelwert berechnet nach

$$\Delta A_p = \frac{A_2 - A_1}{100 - A_1} \cdot 100$$

Wie die Abbildung 6 zeigt, ergab sich für die ersten 10 min bei Malatdehydrogenase und Aldolase eine komplette Übereinstimmung der Meßwerte mit den theoretischen Werten. Bei Aspartataminotransferase und Alaninaminotransferase wurden, bezogen auf die theoretische Kurve, etwas zu niedrige Aktivitätsanstiege beobachtet; die Creatinkinase stieg sehr viel langsamer an,

als theoretisch zu erwarten gewesen wäre. Deutlich stärker als erwartet nahmen die Aktivitäten von Glutamatdehydrogenase und Pyruvatkinase zu.

In der Abbildung 7 werden für den zweifachen Austausch die Anfangskinetiken nach dem ersten und dem zweiten Austausch verglichen. Sie sind für alle vier Enzyme nahezu deckungsgleich und zeigen damit, daß auch bei mehrfachem Blutaustausch das Reservoir von Zellenzymen im Interstitium nicht erschöpft oder merklich vermindert werden kann, was einerseits auf die Größe des interstitiellen Raumes zurückzuführen ist, andererseits aber auch darauf, daß offensichtlich aus dem intrazellulären Raum ausreichend Enzymaktivität nachströmt, um den „Verlust“ zu kompensieren.

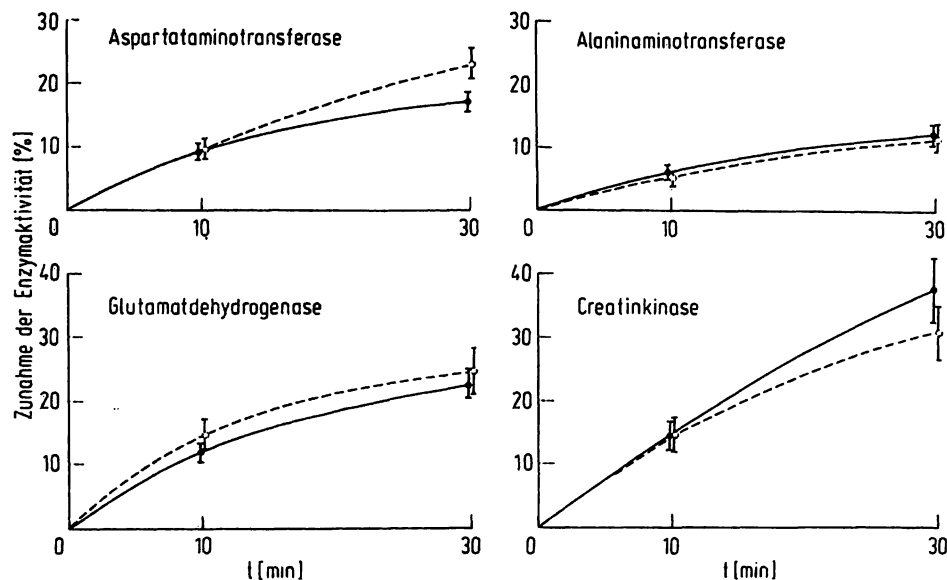


Abb. 7. Zunahme von Enzymaktivitäten im Intravasalraum nach einmaligem Blutaustausch (durchgezogene Linie) und Wiederholung des Austausches 90 min später (gestrichelte Linie).

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ , n wie in Abb. 5.

●—● nach erstem Blutaustausch

○---○ nach zweitem Blutaustausch

Immer noch ausgehend von der Annahme, daß der Lymphtransport während der ersten 10 min nach dem Blutaustausch zu vernachlässigen ist, wurden die  $\Delta A_p$ -Werte für  $t = 10$  min in die Funktion

$$\Delta A_p = A_0 (1 - e^{-k_2 t})$$

eingesetzt. Der Grenzwert  $A_0$  wurde mit 100% angenommen. Die einzige Unbekannte  $k_2$  kann nach Umformung der Funktion berechnet werden nach

$$k_2 = - \frac{\ln(100 - \Delta A_p) - \ln 100}{t}$$

Die Halbwertszeit ( $T/2$ ) für die Verteilung von Enzymen nach Plasmapherese errechnet sich aus  $k_2$  nach

$$T/2 = \frac{\ln 2}{k_2}$$

Da sich zwischen den beiden Versuchsgruppen mit einfachem und doppeltem Blutaustausch anfangs für die Kinetik nach dem ersten Austausch keine Unterschiede ergeben hatten und auch die Versuchsanordnung identisch war, wurden für diese Berechnung der Halbwertszeiten die Ergebnisse beider Gruppen herangezogen. In der Tabelle 1 sind die derart ermittelten Halbwertszeiten zusammengestellt und mit den nach intravenöser Injektion autologer Enzyme ermittelten Daten verglichen. Für Malatdehydrogenase und Aldolase wurden nach beiden Verfahren nahezu identische Halbwertszeiten ermittelt. Die Glutamatdehydrogenase und Pyruvatkinase zeigten nach Plasmapherese eine signifikant schnellere Verteilung als nach intravenöser Injektion.

Tab. 1. Vergleich von Halbwertszeiten (min) für die Verteilung autologer Zellenzyme zwischen Interstitium und Intravasalraum ermittelt nach Plasmapherese und nach intravenöser Injektion (4).

		Plasmapherese	i.v.-Injektion	2 P
Malatdehydrogenase	$\bar{x}$	38,2	34,8	n.s.
	$s_{\bar{x}}$	9,6	3,0	
	n	7	6	
Glutamatdehydrogenase	$\bar{x}$	73,7	242	< 0,001
	$s_{\bar{x}}$	8,2	17	
	n	20	9	
Aspartataminotransferase	$\bar{x}$	78,4	32,2	< 0,01
	$s_{\bar{x}}$	7,4	2,5	
	n	27	8	
Alaninaminotransferase	$\bar{x}$	118	46,4	< 0,05
	$s_{\bar{x}}$	15	3,3	
	n	37	8	
Pyruvatkinase	$\bar{x}$	123	350	< 0,01
	$s_{\bar{x}}$	31	38	
	n	5	8	
Creatinkinase	$\bar{x}$	49,6	10,6	< 0,001
	$s_{\bar{x}}$	6,7	0,4	
	n	21	8	
Aldolase	$\bar{x}$	50,5	61,0	n.s.
	$s_{\bar{x}}$	12,0	12,0	
	n	6	7	

Es ist naheliegend, hier an eine Verfälschung der Ergebnisse durch den bei der Berechnung vernachlässigten Lymphfluß und -transport zu denken.

Berechnet man allerdings aus den von Vogel et al. (15) angegebenen Daten für den normalen Lymphfluß und aus unseren Ergebnissen über die Aktivitäten in der

Darmlymphe (5) den Aktivitätseinstrom binnen 10 min, ergibt sich aus den korrigierten Meßwerten zwar eine Verlängerung der Halbwertszeiten von 123 auf etwa 160 min bei der Pyruvatkinase und von 74 auf etwa 80 min bei der Glutamatdehydrogenase, eine befriedigende Erklärung für die Unterschiede in der Tabelle 1 läßt sich jedoch hiermit nicht finden.

Bei Aspartataminotransferase, Alaninaminotransferase und Creatinkinase wurden demgegenüber nach Plasmapherese signifikant niedrigere Halbwertszeiten für die Verteilung gefunden als nach i.v.-Injektion. Diese Diskrepanz kann nur dadurch erklärt werden, daß entweder nach i.v.-Injektion autologer Enzyme gleichzeitig mit der Verteilung eine intravasale Inaktivierung oder eine direkte Elimination aus dem Intravasalraum einsetzt, wodurch zu kleine Halbwertszeiten vorgetäuscht würden, oder daß die nach Plasmapherese ermittelten Werte ebenfalls durch eine direkte Elimination aus dem Plasma verfälscht wurden, und damit in diesem Falle zu große Halbwertszeiten ermittelt wurden.

Insgesamt ergibt sich auch nach Plasmapherese eine Korrelation zwischen dem Molekulargewicht von Enzymen und ihren Halbwertszeiten bei der Verteilung zwischen Interstitium und Intravasalraum. Die Konstanten der

durch Regression ermittelten Funktion

$$\ln MG = 0,633 \cdot \ln T/2 + 9,08$$

sind sehr ähnlich denen der früher mit dem Injektionsmodell ermittelten Funktion (4). Der Korrelationskoeffizient  $r = 0,5272$  ist jedoch bei einem Stichprobenumfang von  $n = 7$  statistisch nicht von 0 verschieden.

Das Plasmapherese-Modell ist sicher in der bisher von uns praktizierten Form noch nicht als ideales Modell für Untersuchungen der Verteilung, des Transportes und der Elimination von Zellenzymen im extrazellulären Raum anzusehen. Die bisher mit ihm gewonnenen Ergebnisse zum Problem der Verteilung zeigen teilweise gute Übereinstimmung aber auch deutliche Divergenzen beim Vergleich mit Ergebnissen, die konventionell (Erhöhung der Aktivität im Intravasalraum) gewonnen wurden. Der Vorteil des Modells ist darin zu sehen, daß pathophysiologische Mechanismen deswegen besser zu imitieren sind, weil es gelingt, ein Aktivitätsgefälle in Richtung auf den Intravasalraum aufzubauen. Ein Nachteil ist in dem nicht unerheblichen methodischen Aufwand zu sehen und sicher auch darin, daß es uns bisher nur schwer möglich ist, die gesamte Kinetik des Aktivitätsanstiegs im Intravasalraum nach Plasmapherese in einzelne Prozesse zu zerlegen und diese getrennt zu charakterisieren.

## Literatur

1. Amelung, D. (1968) in *Praktische Enzymologie* (Schmidt, F. W., ed.), S. 149. Huber, Bern/Stuttgart.
2. Posen, S. (1970). *Clin. Chem.* 16, 71–84.
3. Bär, U., Friedel, R., Heine, H., Mayer, D., Ohlendorf, S., Schmidt, F. W. & Trautschold, I. (1972/73). *Enzyme* 14, 133–156.
4. Friedel, R., Bode, R. & Trautschold, I. (1976), *diese Z.* 14, 129–136.
5. Friedel, R., Bode, R., Trautschold, I. & Mattenheimer, H. (1976), *diese Z.* 14, 119–128.
6. Lewis, G. P. (1969). *J. Physiol.* 205, 619–634.
7. Jasani, M. K. & Lewis, G. P. (1971). *J. Physiol.* 219, 525–554.
8. Malmberg, P. (1972). *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 30, 153–158.
9. Malmberg, P. (1972). *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 30, 405–409.
10. Szabo, G., Anda, E. & Vondor, E. (1972). *Experientia* 28, 1429 bis 1430.
11. Szabo, G. & Magyar, Z. (1973). *Experientia* 29, 533–535.
12. Szabo, G., Vondor, E. & Anda, E. (1973). *Res. Exp. Med.* 161, 39–48.
13. Spiekermann, P. G., Nordbeck, H., Knoll, D., Kohl, F.-V., Sakai, K. & Bretschneider, H. J. (1974). *Deut. Med. Wochenschr.* 99, 1143–1144.
14. Takeuchi, N. & Yamamura, Y. (1972). *J. Lab. Clin. Med.* 79, 801–813.
15. Vogel, G., Stoeckert, I. & Weis, U. (1963). *Pflügers Arch. Ges. Physiol.* 277, 236–281.

Priv.-Doz. Dr. R. Friedel  
Inst. f. Klin. Biochemie  
u. Physiol. Chemie der MHH  
Karl-Wiechert-Allee 9  
3000 Hannover 61